

Efeitos da glutamina e da estimulação elétrica sobre o perfil metabólico de músculos desnervados

CDD. 20.ed. 574.13

Fabiana FORTI*
Karina Maria CANCELLIERO*
Rinaldo Roberto de Jesus GUIRRO*
Carlos Alberto da SILVA*

* Universidade
Metodista de
Piracicaba.

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o conteúdo de glicogênio (GLI) dos músculos sóleo (S) e gastrocnêmio porção branca (GB) e vermelha (GV) normais (C) e desnervados (D), as concentrações plasmáticas de glicose e ácido láctico, além do peso do músculo S de ratos machos, submetidos à estimulação elétrica (EE) (20 minutos/dia, $f = 10$ Hz; $i = 5$ mA; $t = 3$ ms) em dias alternados, associada (EE+G) ou não à glutamina (G) durante 30 dias. A análise estatística foi realizada pela ANOVA, seguida do teste de Tukey (5%). A desnervação promoveu redução significativa ($p < 0,05$) de 40,91% nas reservas de GLI do S, 38,77% no GB e 64,61% no GV. A EE promoveu elevação significativa ($p < 0,05$) do glicogênio muscular, sendo de 111,36% no S-C, 103,84% no S-D; 114,28% no GB-C, 153,33% no GB-D; 41,54% no GV-C e de 147,83% no GV-D. Na presença da G houve aumento significativo ($p < 0,05$) de 54% GLI no S-C, sem promover alterações nos demais músculos do grupo C e de 46% no S-D, 27% no GB-D e 52% no GV-D. O glicogênio também apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) no grupo EE+G, sendo de 104,54% no S-C e de 100% no S-D; 70,45% no GB-C e 110% no GB-D; 27,69% no GV-C e 100% no GV-D. Quanto ao peso do S, este foi reduzido em 43,73% no grupo D ($p < 0,05$), porém o tratamento com EE promoveu elevação significativa de 9,76% no D ($p < 0,05$), sendo mais expressivo quando da associação (EE+G), onde apresentou elevação de 43,11% no C e 38,11% no D ($p < 0,05$). Os resultados demonstram que a EE associada ou não à G mantém o perfil metabólico dos músculos esqueléticos assegurando o fornecimento energético celular adequado, além de minimizar a perda de peso muscular após a desnervação.

UNITERMOS: Glutamina; Estimulação elétrica; Desnervação; Músculo esquelético.

Introdução

Clinicamente, as conseqüências mais óbvias de uma interrupção completa de inervação motora são: a perda imediata da atividade voluntária e reflexa do músculo, seguida de uma atrofia muscular progressiva durante semanas ou meses seguintes. Essas seqüelas clínicas, no entanto, representam somente uma parcela das respostas, uma vez que as fibras do músculo desnervado são bioquímica, mecânica, elétrica e morfológicamente diferentes das fibras do músculo normal.

Estudos sobre os efeitos da desnervação na homeostasia energética do músculo sóleo, têm demonstrado redução na sensibilidade à insulina;

redução na atividade das vias reguladoras do metabolismo da glicose; redução na expressão gênica dos transportadores GLUT 1 e GLUT 4 e redução na captação e no metabolismo muscular da glicose, fatores que podem desencadear o processo de atrofia (CODERRE, MONFAR, CHEN, HEYDRICK, KUROWSKI, RUDERMAN & PICK, 1992; SMITH & LAWRENCE, 1984). Esta atrofia está diretamente relacionada com a interrupção completa de inervação motora e perda imediata da atividade voluntária e reflexa do músculo (HENRIKSEN, ROODNICK, MONDON, JAMES & HOLLOSZY, 1991).

Por outro lado, tem sido demonstrado que o aumento na atividade contrátil induzida pelo exercício físico favorece a captação de glicose pelas fibras musculares, isto é explicado pela translocação de transportadores GLUT4 de reservatórios citosólicos para a membrana, aumentando com isso a captação de glicose (GOODYEAR, HIRSHMAN, VALYOU & HORTON, 1992).

A suplementação alimentar vem sendo utilizada na área esportiva com a finalidade de aumentar a disponibilidade de substratos energéticos buscando melhorar a resistência de média, curta e longa duração, construir tecido muscular, aumentar força, potência e velocidade, alterar os processos metabólicos, reparar lesões e tecidos traumatizados além de acelerar o processo de recuperação após o treinamento e ou lesão (BASSIT, SAWADA, BACURAU, NAVARRO & COSTA ROSA, 2000).

A glutamina, um dos suplementos utilizados, é um aminoácido não essencial, ou seja, o organismo está apto a sintetizá-lo a partir do ácido glutâmico, valina e isoleucina, perfazendo aproximadamente 50% de todos os aminoácidos livres e especificamente em se tratando de músculo esquelético humano apresenta de 40 - 60% do "pool" de aminoácidos livres (BILL, 1997; VINNARS, BERGSTRP, & FURST, 1975). O metabolismo da glutamina acontece através de uma única reação catalisada por duas enzimas, ou seja, a glutamina sintetase catalisa a síntese de glutamina fazendo a interação de glutamato e amônia e a glutaminase faz a reação inversa, assim, a direção e os valores destas reações é que vão determinar se o tecido é consumidor ou produtor de glutamina (BULUS, CERSOSIMO, GHISHAN & ABUMRAD, 1989).

A síntese da glutamina acontece primariamente nos músculos, mas também nos pulmões, fígado, cérebro e possivelmente no tecido adiposo (ROWBOTTOM, KEAST & MORTON, 1996). Os rins,

células do sistema imune e tracto gastrointestinal consomem-na enquanto o fígado é o único órgão que tanto consome como produz (NEWSHOLME, 1994; NEWSHOLME, CURI, PITHON CURI, MURPHY, GARCIA & PIRES DE MELO, 1999). É importante citar que em condições diferenciadas como no estresse, câncer, sepse ou lesões, os órgãos necessitam de uma demanda muito maior de glutamina, o que pode não ser suprido apenas pela síntese corporal, sendo sugestiva a possibilidade de suplementação com este aminoácido.

A glutamina exerce funções muito importantes para o organismo, entre elas, a manutenção do sistema imunológico; equilíbrio do balanço ácido/básico durante estado de acidose; controle do volume celular; desintoxicação corporal do nitrogênio e da amônia; controle entre o catabolismo e anabolismo; combate à síndrome do "overtraining" (OTS) e precursora de nitrogênio para a síntese de nucleotídeos (CURI, 2000).

Tendo como parâmetro o fato da desnervação desencadear profundas alterações anatomo-fisiológicas e conseqüentemente atrofia, o objetivo deste estudo foi avaliar os reservatórios de glicogênio dos músculos sóleo e gastrocnêmio, normais e desnervados bem como o peso do músculo sóleo de ratos suplementados com glutamina associada ou não à estimulação elétrica.

Por se tratar de suplementação com um aminoácido metabolizável, avaliou-se também outros parâmetros como o conteúdo hepático de glicogênio (enquanto principal reservatório de glicose mobilizável de acordo com a demanda), as concentrações plasmáticas de glicose, lactato, triacilgliceróis, ácidos graxos livres e da enzima transaminase glutâmica oxalacética (enquanto parâmetros indicativos de alterações metabólicas e índice de toxicidade).

Materiais e métodos

Foram utilizados ratos machos, albinos, Wistar com idade variando de três a quatro meses procedentes do Biotério da UNIMEP, alimentados com ração e água "ad libitum" sendo submetidos a ciclo fotoperiódico de 12 h claro/escuro, sob temperatura controlada.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos (n = 6): Controle; Desnervado; Controle + Estimulação Elétrica; Desnervado + Estimulação

Elétrica; Controle + Glutamina; Desnervado + Glutamina; Controle + Estimulação Elétrica + Glutamina; Desnervado + Estimulação Elétrica + Glutamina.

Para a desnervação os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico, (HYPNOL, CRISTÁLIA, SP), na concentração de 40 mg/kg de peso corporal, sendo tricotomizados na porção posterior das coxas por onde uma porção do nervo

ciático foi seccionada e retirada, segundo o modelo utilizado por CODERRE et al. (1992).

Os grupos que integraram o tratamento com estimulação elétrica foram estimulados com os seguintes parâmetros: $f=10$ Hz; $T(ms)=3,0$; pulso quadrático bifásico; 20 minutos/dia. A intensidade da corrente foi padronizada inicialmente em 5,0 miliampéres (mA), a partir da visualização da contração do músculo desnervado, persistindo a mesma para todos os animais. A cada cinco minutos foi aplicado um acréscimo de 1,0 mA à corrente. Os eletrodos de superfície apresentavam uma área de 1cm^2 .

A estimulação elétrica teve início 24 horas após a lesão nervosa, ocorrendo uma vez ao dia, em intervalos de 48 horas, por um período de 30 dias.

Os grupos experimentais tratados com glutamina receberam o aminoácido na concentração de 5,7 mg/100 g de peso corporal pela via oral durante 30 dias (CURI, 2000).

Resultados

A desnervação induziu uma redução significativa ($p < 0,05$) no conteúdo muscular de glicogênio atingindo 40,91% no sóleo (S), 64,61% no gastrocnêmio porção vermelha (GV) e 38,77% no gastrocnêmio porção branca (GB) (FIGURAS 1, 2 e 3 respectivamente), sugerindo uma íntima relação entre a integridade da inervação motora, captação/metabolismo de glicose e síntese de glicogênio, mostrando que a desnervação compromete a homeostasia energética da musculatura. Na presença da glutamina, houve um aumento no conteúdo de glicogênio no grupo controle de 54% no S ($p < 0,05$), de 17% no GV ($p > 0,05$) e de 16% no GB ($p > 0,05$), bem como no grupo desnervado (46% no S, 52% no GV e de 27% no GB, $p < 0,05$), mostrando que na presença de glutamina a glicogênese foi intensificada mesmo estando o músculo desnervado (FIGURAS 1, 2 e 3 respectivamente).

O tratamento com Estimulação Elétrica (EE) também foi eficaz em promover elevação significativa ($p < 0,05$) no conteúdo muscular de glicogênio tanto no grupo controle (111,36% no S, 41,54% no GV e 114,28% no GB) quanto no grupo desnervado (103,84% no S, 147,83% no GV e 153,33% no GB) (FIGURAS 1, 2 e 3 respectivamente).

No grupo onde aplicou-se a associação glutamina/estimulação elétrica, observou-se que

Após o período de tratamento, os animais foram anestesiados e o sangue coletado através da veia porta, centrifugado 10 minutos a 2500 rpm e o plasma separado. Amostras do fígado e dos músculos sóleo, gastrocnêmio porção branca e gastrocnêmio porção vermelha foram isoladas, retiradas e encaminhadas para avaliação do conteúdo de glicogênio e somente o músculo sóleo foi encaminhado para avaliação do peso em balança analítica, em virtude do fácil acesso à retirada total do mesmo. O conteúdo muscular de glicogênio foi avaliado através do método fenol sulfúrico, segundo a proposta de LO SIU, TAYLOR e RUSSEAU (1970) e para determinar a glicemia e o lactato, concentração plasmática de triacilgliceróis e transaminase glutâmica oxalacética foi utilizado o método enzimático, segundo o "kit" de utilização laboratorial.

A análise estatística dos dados foi realizada através da análise de variância seguido do teste de Tukey, sendo fixado o nível crítico de 5% ($p < 0,05$).

houve um efeito potencializador nas reservas de glicogênio elevando significativamente ($p < 0,05$) o conteúdo tanto no grupo controle (104,54% no S, 27,69% no GV e 70,45% no GB) quanto no desnervado (100% no S, 100% no GV e 110% no GB) (FIGURAS 1, 2 e 3 respectivamente).

Quanto ao peso muscular do sóleo, pode-se observar na FIGURA 4 que concomitante a desnervação houve redução de 43,73% ($p < 0,05$), possivelmente em decorrência das alterações anatomo-funcionais desenvolvidas pós-desnervação, fato indicativo da deflagração da atrofia. Na presença da glutamina houve elevação de 39% no S controle ($p < 0,05$), sugerindo dois fatores, existência de propriedades anabólicas inerentes ao aminoácido ou o desenvolvimento de um fator osmótico relacionado ao aumento na quantidade de substratos livres no citosol. Por outro lado, na musculatura desnervada, o aminoácido não influenciou na perda de peso induzida pela desnervação, ($p > 0,05$). No grupo tratado com EE houve elevação significativa ($p < 0,05$) no peso do S somente no desnervado (9,76%). Já no grupo submetido à associação da EE com glutamina, o efeito sobre o peso do S foi mais significativo, sendo observado uma elevação de 43,11% no controle ($p < 0,05$) e de 38,11% no desnervado ($p < 0,05$).

Com relação à ação da glutamina sobre o conteúdo hepático de glicogênio, vale a pena destacar que observou-se elevação significativa ($p < 0,05$) nas reservas indicando uma ação sobre a glicogênese nos hepatócitos (TABELA 1).

Por se tratar de um aminoácido cuja ação está pautada em alterações no metabolismo, observou-se que o tratamento não promoveu

alteração significativa ($p > 0,05$): na glicemia, lactato, ácidos graxos livres e triacilgliceróis. Com relação à toxicidade, avaliou-se a concentração plasmática da enzima transaminase glutâmica oxalacética (TGO), e verificou-se que o tratamento não promoveu alteração significativa ($p > 0,05$), reforçando a aplicabilidade da suplementação (TABELA 1).

FIGURAS 1 e 2 - Os valores correspondem à média \pm epm, $n = 6$. * em relação ao Controle; # em relação ao Desnervado ($p < 0,05$).

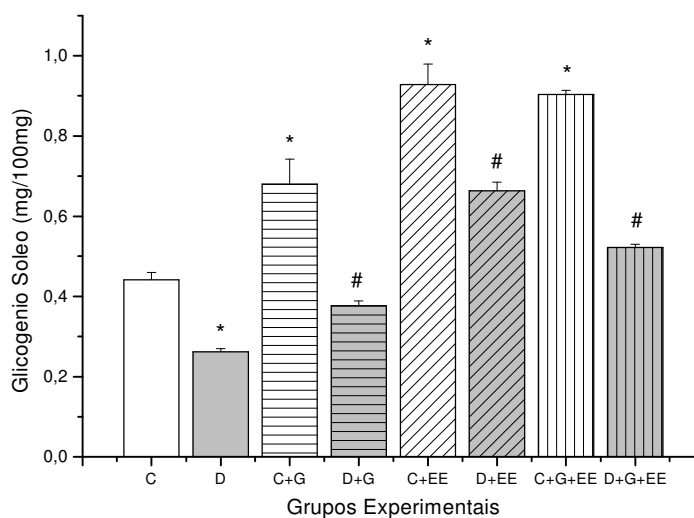


FIGURA 1 - Concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo sóleo dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + Glutamina (C+G), Desnervado + Glutamina (D+G), Controle + EE (C+EE), Desnervado + EE (D+EE), Controle + Glutamina + EE (C+G+EE), Desnervado + Glutamina + EE (D+G+EE).

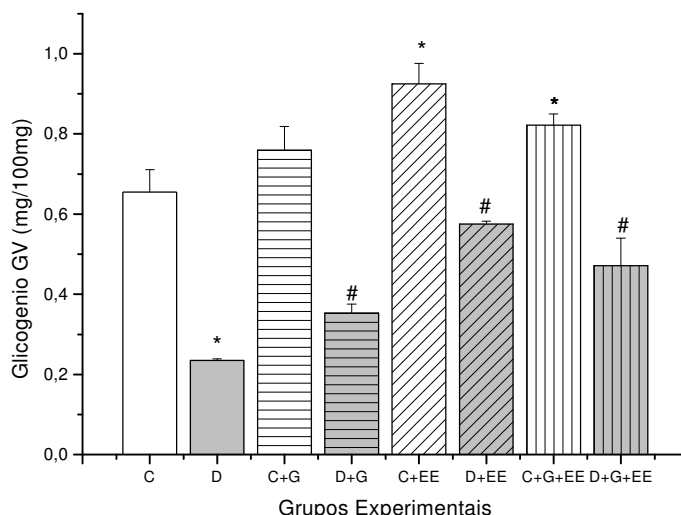
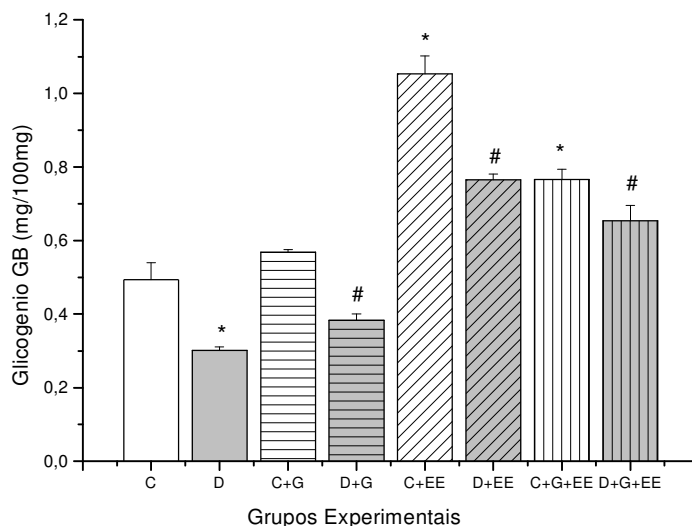


FIGURA 2 - Concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo Gastrocnêmio Vermelho (GV) dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + Glutamina (C+G), Desnervado + Glutamina (D+G), Controle + EE (C+EE), Desnervado + EE (D+EE), Controle + Glutamina + EE (C+G+EE), Desnervado + Glutamina + EE (D+G+EE).



FIGURAS 3 e 4 - Os valores correspondem à média \pm epm, n = 6. * em relação ao Controle; # em relação ao Desnervado (p < 0,05).

FIGURA 3 - Concentração de Glicogênio (mg/100mg) do músculo Gastrocnêmio Branco (GB) dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + Glutamina (C+G), Desnervado + Glutamina (D+G), Controle + EE (C+EE), Desnervado + EE (D+EE), Controle + Glutamina + EE (C+G+EE), Desnervado + Glutamina + EE (D+G+EE).

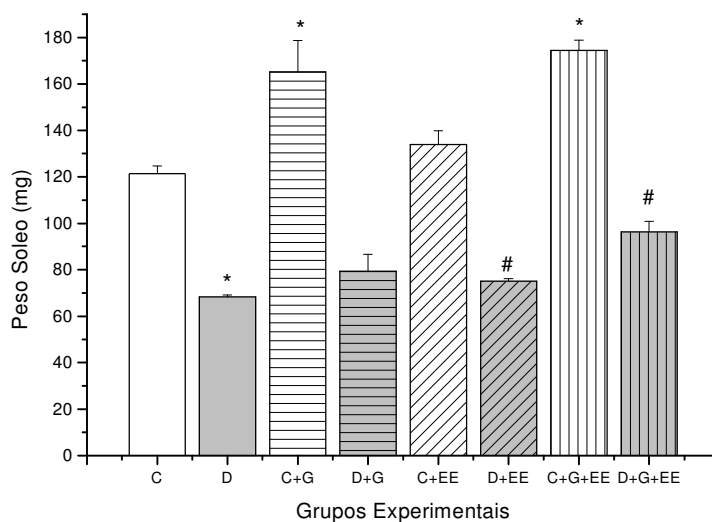


FIGURA 4 - Peso do músculo Sóleo (mg) dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + Glutamina (C+G), Desnervado + Glutamina (D+G), Controle + EE (C+EE), Desnervado + EE (D+EE), Controle + Glutamina + EE (C+G+EE), Desnervado + Glutamina + EE (D+G+EE).

TABELA 1 - Concentração hepática de glicogênio e concentrações plasmáticas de glicose, lactato, ácidos graxos livres (AGL), Triacilgliceróis (TAG) e transaminase glutâmica oxalacética (TGO).

Grupos	Glicogênio Hepático (mg/100 mg)	Glicemia (mg/dl)	Lactato (mmol/l)	AGL (mmol/l)	TAG (mg/dl)	TGO (U/ml)
C	5,06 \pm 0,1	104,93 \pm 5,1	1,97 \pm 0,08	0,46 \pm 0,02	136,22 \pm 6,9	39,54 \pm 3,3
D	4,83 \pm 0,06	114,56 \pm 5,8	1,80 \pm 0,07	0,45 \pm 0,01	134,15 \pm 5,2	41,14 \pm 0,07
C+G	6,63 \pm 0,1*	85,73 \pm 3,0*	1,94 \pm 0,1	0,42 \pm 0,03	106,90 \pm 2,3*	34,36 \pm 2,4
D+G	6,00 \pm 0,1#	89,02 \pm 4,1	2,02 \pm 0,05	0,44 \pm 0,01	119,38 \pm 4,9#	39,44 \pm 3,3
C+EE	4,94 \pm 0,05	103,90 \pm 2,8	1,84 \pm 0,04	0,46 \pm 0,02	129,56 \pm 4,4	38,91 \pm 4,2
D+EE	4,64 \pm 0,1	95,47 \pm 2,4	2,06 \pm 0,05*	0,41 \pm 0,01	103,67 \pm 3,53#	38,25 \pm 2,1
C+G+EE	6,50 \pm 0,1*	101,44 \pm 2,6	2,09 \pm 0,06#	0,44 \pm 0,03#	124,96 \pm 4,3	40,59 \pm 1,8
D+G+EE	6,56 \pm 0,09#	102,03 \pm 3,6	2,03 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01	123,07 \pm 4,9	39,76 \pm 2,5

Os valores correspondem à média \pm epm, n = 6. * p < 0,05 comparado ao Controle; # p < 0,05 comparado ao Desnervado.

Discussão

A musculatura esquelética é um tecido de suma importância no controle glicêmico visto sua grande massa e alta capacidade de captação de glicose. A dinâmica contrátil depende da integridade funcional das placas motoras e do processo de captação de substratos energéticos.

É sabido que tanto a contração muscular quanto a insulina estimulam o transporte de glicose translocando GLUT 4 e com isto elevando a disponibilidade deste importante substrato (RICHARDSON, BALON, TREADWAY & PESSIN, 1991). Neste contexto, a estimulação elétrica é um instrumento importante pois promove uma elevação na atividade contrátil beneficiando a musculatura uma vez que propicia elevação na disponibilidade da hexose (RYDER, KAWANO, GALUSKA, FAHLMAN, HENRIKSSON, CHARRON & ZIERATH, 1999).

Em estudos relacionados ao metabolismo muscular com a utilização da estimulação elétrica, foi verificado que esta promoveu elevação no conteúdo muscular de glicogênio, uma vez que o grupo submetido somente à estimulação elétrica apresentou maiores reservas do que o grupo controle, fato explicado pela capacidade da estimulação elétrica promover ativação das vias de captação de glicose e formação de reservatórios (CANCELLIERO, FORTI, GUIRRO & SILVA, 2003; DA SILVA & GUIRRO, 1999; FORTI, CANCELLIERO, GUIRRO & SILVA, 2001).

Neste sentido, recentemente POLACOW, SILVA, GUIRRO, SILVA, TANNO e RODRIGUES (1999) demonstraram através de análise histológica que a fibrose desenvolvida nos músculos desnervados foi antagonizada na presença de estimulação elétrica sendo observado tanto uma expressiva melhora no perfil metabólico quanto redução no processo fibrótico, mantendo a integridade parcial das fibras e predispondo ao favorecimento da reinervação.

Para alguns nutricionistas, a glutamina não é considerada como “não essencial” devido a sua grande importância tanto para a síntese dos demais aminoácidos quanto para a manutenção da homeostasia de vários tecidos durante estados catabólicos (MCARDLE, KATCH & KATCH, 1998; BILL, 1997; ROWBOTTOM, KEAST & MORTON, 1996; WALSH et al., 2000;).

GASTELU e HATFIELD (1997), relacionando a função anticatabólica da glutamina, propuseram que a administração de glutamina neutralizaria os efeitos catabólicos do esteróide cortisol, aumentando a possibilidade de anabolismo. Referente à síntese

muscular, a glutamina atua fazendo o transporte do nitrogênio para a formação de grande parte dos aminoácidos corporais. Além disto, ela atua como precursora de nitrogênio para a formação de nucleotídeos, atuando na sua formação. As proteínas são usadas para a construção de tecidos, estruturas variadas e enzimas (GUYTON, 2002). Portanto, a glutamina atua na síntese de proteína e na construção de tecido muscular.

Tendo em vista a diversidade de condições que mobilizam as reservas energéticas e a importância destes reservatórios para a homeostase do organismo, inicialmente avaliou-se o reservatório hepático de glicogênio e foi observado que na presença do aminoácido houve uma expressiva elevação do conteúdo de glicogênio, fato que está relacionado à capacidade que a glutamina tem em elevar a atividade da enzima glicogênio sintetase favorecendo a formação destes reservatórios (FORTI, CANCELLIERO, SILVA & GUIRRO, 2003; KATZ, GOLDEN & WALS, 1979). Este resultado mostra, que concomitante à suplementação há a aquisição de um novo “status” metabólico (LACEY & WILMORE, 1990).

Ao avaliar as alterações produzidas pela desnervação tanto no músculo sóleo quanto nas porções branca e vermelha do gastrocnêmio, observou-se uma significativa redução no conteúdo de glicogênio (FIGURAS 1, 2 e 3), mostrando que a desnervação comprometeu a homeostasia dos mecanismos responsáveis pela síntese de glicogênio.

Sabendo-se que a desnervação compromete o perfil metabólico do músculo esquelético foi avaliado a ação da glutamina sob os reservatórios de glicogênio dos músculos sóleo e gastrocnêmio desnervados e observou-se que o conteúdo de glicogênio foi maior do que aqueles obtidos nos músculos não tratados, sugerindo que esta poderia estar sendo utilizada como substrato preferencialmente metabolizado liberando a glicose para a formação das reservas de glicogênio, tendo em vista que a glutamina ativa a enzima glicogênio sintetase.

SMITH e LAURENCE (1984) verificaram que concomitante à desnervação da musculatura esquelética ocorre redução na sensibilidade à insulina, fato altamente expressivo a partir do terceiro dia pós-desnervação quando se observa redução de 80% nesta sensibilidade.

Nas FIGURAS 1, 2 e 3 pode-se verificar que a EE promoveu elevação nas reservas de glicogênio tanto dos músculos normais quanto dos

desnervados. O aumento no conteúdo de glicogênio se deve a maior captação de glicose pela população de GLUT 4 que são externalizados e decorre ainda da ativação dos sistemas enzimáticos citosólicos envolvidos na glicogênese (ETGEN, FARRAR & IVY, 1993; KERN, WELLS, STEPHENS, ELTON, FRIEDMAN, TAPSCOTT, PEKATA & DOHN, 1990; ROY, JOHANSSON, BONEN & MARETTE, 1997).

Observa-se ainda na FIGURA 4 que a desnervação promoveu uma redução no peso do músculo sóleo, e que a glutamina, a eletroestimulação e a associação dos tratamentos não foram eficientes para interferir totalmente no processo degenerativo desencadeado, não sendo suficientes para restabelecer ou impedir a redução no peso dos músculos desnervados.

Sabendo-se que a glutamina é um substrato energético metabolizado nas células beta pancreáticas avaliamos a glicemia dos animais suplementados e não verificamos alterações corroborando com os estudos de CURI, NEWSHOLME,

PITHON CURI, PIRES DE MELO, GARCIA, HOMEM-DE-BITTENCOURT e GUIMARÃES (1999), onde foi demonstrado que a glutamina não induz mudança na secreção de insulina.

No que refere ao perfil bioquímico, foi avaliado se a suplementação estaria modificando a mobilização das reservas energéticas. Neste contexto, não observou-se modificação nas concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, ácidos graxos livres e lactato. Quanto às concentrações plasmáticas da enzima transaminase glutâmica oxalacética, não houve alteração significativa, descartando as principais alterações indicativas de toxicidade.

Deve-se considerar, que com o restabelecimento das reservas de glicogênio, espera-se uma melhor manutenção do padrão energético das fibras, fato que pode contribuir no sentido de minimizar o desenvolvimento da atrofia. Um fato importante e merecedor de destaque é que o grupo tratado com estimulação elétrica isolada ou associada à glutamina apresentou redução parcial na perda de peso.

Conclusões

Frente aos resultados obtidos, foi observado que a desnervação reduziu o peso e o conteúdo muscular de glicogênio, sendo que os tratamentos tanto isolados quanto associados foram efetivos em manter o aporte de glicose, favorecendo a formação das reservas de glicogênio e implantando um status energético diferenciado, sem no entanto, influenciar

no trofismo neuromuscular, visto que a atrofia persistiu. Com relação ao peso, as terapias não foram totalmente efetivas em impedir a perda de peso, porém, minimizaram tal redução. Destaca-se ainda que o perfil bioquímico dos ratos suplementados não diferiram do controle, reforçando a aplicabilidade do tratamento

Abstract

Effect of glutamine and electrical stimulation on metabolic profile of denervated muscles

The purpose of this work was to evaluate the glycogen content of normal and denervated soleus (S) and gastrocnemius muscles, plasmatic concentration of glucose and lactic acid, besides soleus muscle weight of male rats, submitted to electrical stimulation (ES) (20 minutes/day, $f = 10$ Hz; $i = 5$ mA; $t = 3$ ms) in alternated days, associated (ES+G) or not to glutamine during 30 days. The denervation promoted a significant reduction ($p < 0,05$) of 40.91% in S glycogen reserves, 38.77% in white gastrocnemius (WG) and 64.61% in red gastrocnemius (RG). The ES promoted glycogen significant increase ($p < 0,05$) of 111.36% in Control (C) S content and 103.84% in Denervated (D); 114.28% in C-WG and 153.33% in D-WG; 41.54% in C-RG and 147.83% in D-RG. In glutamine presence there was a significant increase ($p < 0,05$) of 54% in S glycogen, without alterations in other muscles of the C group and of 46% in S, 27% in WG and 52% in RG in D. The glycogen also presented significant increase ($p < 0,05$) in ES+G group of 104.54% in C-S and 100% in D-S; 70.45% in C-WG and 110% in D-WG; 27.69% in C-RG and 100% in

D-RG. In relation to the S weight, there was a decrease of 43.73% in D group ($p < 0,05$), however the ES treatment promoted a significant increase ($p < 0,05$) of 9.76% in D. The associated treatment promoted an increase of 43.11% in C and 38.11% in D ($p < 0,05$). The results demonstrated that ES associated or not to glutamine maintain metabolic profile of skeletal muscles ensuring adequate cellular energetic supply, besides minimize the muscular weight loss after denervation.

UNITERMS: Glutamine; Electrical stimulation; Denervation; Skeletal muscle.

Referências

- BASSIT, R.A.; SAWADA, L.A.; BACURAU, R.F.; NAVARRO, F.; COSTA ROSA, L.F. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. *Medicine and Sciences in Sports and Exercise*, Madison, v.32, n.7, p.1214, 2000.
- BILL, P. Glutamine. *Sports Supplement Review*, Golden, n.3, 1997.
- BULUS, N.; CERSOSIMO, E.; GHISHAN, F.; ABUMRAD, N.N. Physiological importance of glutamine. *Metabolism*, New York, v.38, p. 1-5, 1989. Supplement 1.
- CANCELLIERO, K.M.; FORTI, F.; GUIRRO, R.R.J.; SILVA, C.A. Calcitonina inibe os efeitos benéficos da estimulação elétrica no músculo esquelético. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 18., 2003, Curitiba. *Anais...* Curitiba: FESBE, 2003. P.115.
- CODERRE, L.; MONFAR, M.M.; CHEN, K.S.; HEYDRICK, S.J.; KUROWSKI, T.G.; RUDERMAN, N.B.; PICH, P.F. Alteration in the expression of GLUT 1 and GLUT 4 protein and messenger RNA levels in denervated rat muscle. *Endocrinology*, Springfield, v.131, n. 4, p.1821-5, 1992.
- CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: *Sprint*, 2000.
- CURI, R.; NEWSHOLME, P.; PITHON CURI, T.C.; PIRES DE MELO, M.; GARCIA, C.; HOMEM-DE-BITTENCOURT, J.R.; GUIMARÃES, A.R.P. Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Brazilian Journal Medical Biology Research*, Ribeirão Preto, v.32, p.15-21, 1999.
- Da SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J. Efeito da metformina ou eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal ou desnervado. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, São Carlos, v.3, n.2, p.55-60, 1999.
- ETGEN, G.J.; FARRAR, R.P.; IVY, J.L. Effect of chronic electrical stimulation on GLUT 4 protein content in fast-twitch muscle. *American Journal of Physiology*, Washington, v.264, p.R816-19, 1993.
- FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M.; GUIRRO, R.R.J.; SILVA, C.A. The effect of metformin or electric stimulation on glycogen reserves in normal or denervated rat skeletal muscle. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Amsterdam, v.13, p.S74, 2001. Supplement 1.
- FORTI, F.; CANCELLIERO, K.M.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J. O efeito da glutamina no músculo esquelético desnervado. *Saúde em Revista*, Piracicaba, v.9, p.59-65, 2003.
- GASTELU, D.; HATFIELD, F. *Dynamic nutrition for maximum performance*. [S.l.: s.n.], 1997.
- GOODYEAR, L.J.; HIRSHMAN, M.F.; VALYOU, P.M.; HORTON, E.S. Glucose transporter number, function, and subcellular distribution in rat skeletal muscle after exercise training. *Diabetes*, New York, v.41, p.1091-9, 1992.
- GUYTON, A. *Fisiologia humana*. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- HENRIKSEN, E.J.; ROODNICK, K.J.; MONDON, C.E.; JAMES, D.E.; HOLLOSZY, J.O. Effect of denervation or unweighting on GLUT 4 protein in rat soleus muscle. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.70, p.2322-7, 1991.
- KATZ, J.; GOLDEN, S.; WALS, P.A. Glycogen synthesis by rat hepatocytes. *Biochemical Journal*, London, v.180, p.89-402, 1979.
- KERN, M.J.; WELLS, J.A.; STEPHENS, J.M.; ELTON, C.W.; FRIEDMAN, J.; TAPSCOTT, E.B.; PEKATA, P.H.; DOHN, G.L. Insulin responsiveness in skeletal muscle is determinate by glucose transporter (GLUT 4) protein level. *Biochemical Journal*, London, v.270, p.397-400, 1990.
- LACEY, J.M.; WILMORE, D.W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutrition Reviews*, Baltimore, v.48, p.297-309, 1990.
- LO SIU, J.C.R.; TAYLOR, W.; RUSSEAU, G.G. Determination of glycogen in small tissue sample. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.28, p.234-6, 1970.

- McARDLE, D.W.; KATCH, I.F.; KATCH, L.V. **Fisiologia do exercício: energia, desempenho e nutrição humana**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- NEWSHOLME, E.A. Biochemical mechanisms to explain immunosuppression in well-trained and overtrained athletes. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.15, p.S142-7, 1994.
- NEWSHOLME, P.; CURI, R.; PITHON CURI, T.C.; MURPHY, C.J.; GARCIA, C.; PIRES DE MELO, M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v.10, p.316-24, 1999.
- POLACOW, M.L.O.; SILVA, C.A.; GUIRRO, R.R.J.; SILVA, H.C.; TANNO, A.P.; RODRIGUES, D. Efeito da metformina e eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal e desnervado. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v.3, n.2, p.55-60, 1999.
- RICHARDSON, J.M.; BALON, T.W.; TREADWAY, J.L.; PESSIN, J.E. Differential regulation of glucose transport activity and expression in red and white skeletal muscle. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.266, p.12690-4, 1991.
- ROWBOTTOM, G.D.; KEAST, D.; MORTON, R.A. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. **Sport Medicine**, Auckland, v.21, n.2, p.80-97, 1996.
- ROY, D.; JÓHANNSSON, E.; BONEN, A.; MARETTE, A. Electrical stimulation induces fiber type-specific translocation of GLUT 4 to T tubules in skeletal muscle. **American Journal of Physiology**, Washington, v.273, p.E688-94, 1997.
- RYDER, J.W.; KAWANO, Y.; GALUSKA, D.; FAHLMAN, R.; HENRIKSSON, H.W.; CHARRON, M.J.; ZIERATH, J.R. Postexercise glucose uptake and glycogen synthesis in skeletal muscle from GLUT4 - deficient mice. **The FASEB Journal**, Bethesda, v.13, p.2246-56, 1999.
- SMITH, R.L.; LAWRENCE, J.C. Insulin action in denervated rat hemidiaphragms. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.259, p.2201-7, 1984.
- VINNARS, E.; BERGSTROM, J.; FURST, P. Influence of the postoperative state on the intracellular free aminoacids in human muscle tissue. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v.182, p.665-71, 1975.
- WALSH, N.P.; BLANNIN, A.K.; BISHOP, N.C.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Champaign, v.10, n.1, p.39-50, 2000.

ENDEREÇO

Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
Universidade Metodista de Piracicaba
Rod. do Açúcar, km 156
13400-911 - Piracicaba - SP - BRASIL
e-mail: rjguirro@unimep.br

Recebido para publicação: 09/02/2004

Revisado: 26/10/2004

Aceito: 17/11/2004